

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-327553

(43)Date of publication of application : 13.12.1996

(51)Int.Cl. G01N 21/78  
G01N 1/28  
G01N 31/22  
G01N 33/68  
G01N 33/98

(21)Application number : 07-130399 (71)Applicant : KONICA CORP

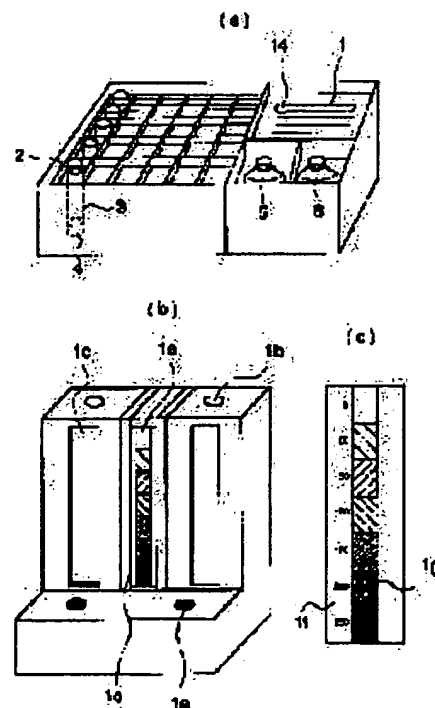
(22)Date of filing : 29.05.1995 (72)Inventor : MURAKAMI TAKASHI  
NUMAMA MASAYUKI

## (54) METHOD AND KIT FOR DETECTING RESIDUE

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To easily, rapidly and accurately detect trace amounts of residues adhering to a sample surface by wiping the target part of the sample surface with a detecting medium, and bringing the target part into contact with a reagent which is colored when reacted with the material wiped off.

**CONSTITUTION:** Several drops of a reagent 5, which is colored when reacted with, e.g. an amino acid, are added to a reagent 4 in a glass tube 3 to prepare a coloring reagent. A certain area of the surface of a subject (sample) for measurement is wiped with a detecting-medium water-absorbing part 14 (fiber or porous resin) at the end of an applicator-shaped detecting medium 1. If the sample surface is dry, the surface can be wiped effectively by wetting the water absorbing part 14 with an appropriate aquatic medium (purified water, aqueous solution of surfactant, or the like). Next, the detecting medium 1 wiped is dipped in the coloring reagents 4, 5 in the tube 3 and reacted, and coloring caused by residues adhering to the sample is either measured with a spectrophotometer or visually observed by use of a standard color scale.



---

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination] 07.08.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3654956

[Date of registration] 11.03.2005

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-327553

(43)公開日 平成8年(1996)12月13日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	P I	技術表示箇所
G 0 1 N 21/78			G 0 1 N 21/78	Z
1/28			31/22	1 2 2
31/22	1 2 2		33/68	
33/68			33/98	
33/98			1/28	V
審査請求 未請求 請求項の条18 O L (全 13 頁)				

(21)出願番号 特願平7-130399

(22)出願日 平成7年(1995)5月29日

(71)出願人 000001270

コニカ株式会社

東京都新宿区西新宿1丁目26番2号

(72)発明者 村上 隆

東京都日野市さくら町1番地コニカ株式会社内

(72)発明者 沼間 雅之

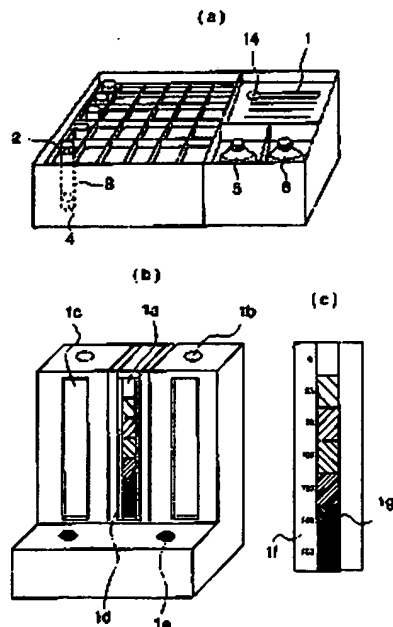
東京都日野市さくら町1番地コニカ株式会社内

(54)【発明の名称】 残留物の検出方法及び残留物検出キット

(57)【要約】

【目的】 特に食品加工工場・薬品製造工場などの設備、器具の残留物質（炭水化物・糖・アミノ酸、或いはアルデヒド、アルコール、脂質（中性脂肪、脂肪酸））を簡便かつ正確に、且つ洗浄度の判定や汚染状況の確認に利用でき、又上記利用方法に限定されず、固体物体上に付着した微量の残留物を簡便迅速かつ正確に検出する検出方法及び残留物検出キットの提供。

【構成】 試料表面に付着している残留物を検出する方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分に残留物と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していた残留物を検出することを特徴とする残留物の検出方法。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料表面に付着しているアミノ酸の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアミノ酸と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアミノ酸を検出することを特徴とするアミノ酸の検出方法。

【請求項2】 試料表面に付着している炭水化物の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分に炭水化物と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していた炭水化物を検出することを特徴とする炭水化物の検出方法。

【請求項3】 試料表面に付着しているアルデヒドの検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアルデヒドと反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアルデヒドを検出することを特徴とするアルデヒドの検出方法。

【請求項4】 試料表面に付着しているアルコールの検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアルコールと反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアルコールを検出することを特徴とするアルコールの検出方法。

【請求項5】 試料表面に付着している脂質の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分に脂質と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していた脂質を検出することを特徴とする脂質の検出方法。

【請求項6】 前記検出媒体が吸水部と支持棒からなることを特徴とする請求項1～5の何れか1項記載の検出方法。

【請求項7】 前記検出媒体の吸水部が結晶性高分子の繊維からなることを特徴とする請求項6記載の検出方法。

【請求項8】 前記検出媒体の吸水部が疎水性繊維からなることを特徴とする請求項7記載の検出方法。

【請求項9】 前記検出媒体の吸水部が試料拭拭前に水性媒体で湿潤されていることを特徴とする請求項6～8の何れか1項記載の検出方法。

【請求項10】 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アミノ酸と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアミノ酸検出キット。

【請求項11】 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、炭水化物と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とする炭水化物検出キット。

【請求項12】 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アルデヒドと接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアルデヒド検出キット。

【請求項13】 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アルコールと接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアルコール検出キット。

【請求項14】 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、脂質と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とする脂質検出キット。

【請求項15】 前記検出媒体が吸水部と支持棒からなることを特徴とする請求項10～14の何れか1項記載の検出キット。

【請求項16】 前記検出媒体の吸水部が結晶性高分子の繊維からなることを特徴とする請求項15記載の検出キット。

【請求項17】 前記検出媒体の吸水部が疎水性繊維からなることを特徴とする請求項16記載の検出キット。

【請求項18】 試料表面に付着している残留物をオキシダーゼを含む酵素発色反応によって検出する方法において、試料表面の対象部分を検出媒体の吸水部で拭拭して試料を採取し、該吸水部にオキシダーゼを含む発色試薬液を接触させて反応を行なわせ、検出媒体及び発色試薬液の発色の度合により前記試料の表面に付着していた残留物を検出することを特徴とする残留物の検出方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は残留物（アミノ酸、炭水化物、脂質、アルデヒド及びアルコール）の検出方法及び残留物検出キットに関する。

## 【0002】

【従来の技術】 人間生活を営んでいく物質的条件の3大要素である衣、食、住のうち衣、住は環境、その他の条件である程度は開却できるが、食は日常、必須不可欠である。

【0003】 従って食物は生命維持の根源として常に適度な栄養源を含むと共に、健康に危害を与えることがあってはならない。我が国の公衆衛生状態は目覚ましく進歩改善をみせているが、こと食品衛生の面では、質的観点から完全に衛生的とは言えない。

【0004】 飲食に起因する衛生上の危害が発生しない様、飲食関連の添加物、容器、包装環境等は衛生的に品質、性状を管理する必要がある。

【0005】 特に、食品の加工工場或いは、食品の製造工場などの設備ではしばしば同じ設備で異なる種類の種類の製品を製造している様な場合、一度使用した設備を洗浄した後にラインの切り替えを行なっている。その際、これまでは、残留物をチェックすることによる洗浄度の判定は特に行なわれていなかった。そのため、必要

以上に洗浄操作が行なわれ、作業効率を落していることがあった。逆に、不十分な洗浄操作により、製品の汚染やコンタミなどが起きるという懸念があった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、簡便で正確な残留物の検出方法及び残留物検出キットを提供することにある。特に食品加工工場・薬品製造工場などの設備、機具の残留物質（炭水化物・糖・アミノ酸、或いはアルデヒド、アルコール、脂質（中性脂肪、脂肪酸））を簡便かつ正確に検出する残留物の検出方法及び残留物検出キットを提供し、洗浄度の判定や汚染状況の確認に利用できる残留物の検出方法及び残留物検出キットを提供することにある。又、本発明の目的は上記利用方法に限定されず、固体物体上に付着した微量の残留物を簡便迅速かつ正確に検出する検出方法及び残留物検出キットを提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明の上記目的は、以下の構成により達成される。

【0008】1. 試料表面に付着しているアミノ酸の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアミノ酸と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアミノ酸を検出することを特徴とするアミノ酸の検出方法。

【0009】2. 試料表面に付着している炭水化物の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分に炭水化物と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していた炭水化物を検出することを特徴とする炭水化物の検出方法。

【0010】3. 試料表面に付着しているアルデヒドの検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアルデヒドと反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアルデヒドを検出することを特徴とするアルデヒドの検出方法。

【0011】4. 試料表面に付着しているアルコールの検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分にアルコールと反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していたアルコールを検出することを特徴とするアルコールの検出方法。

【0012】5. 試料表面に付着している脂質の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体で拭拭して、対象部分を移しとり、該移しとった部分に脂質と反応し発色する試薬を接触させ、その発色の度合により前記試料の表面に付着していた脂質を検出することを特徴とする脂質の検出方法。

【0013】6. 前記検出媒体が吸水部と支持体からな

ることを特徴とする前記1～5の何れか1項記載の検出方法。

【0014】7. 前記検出媒体の吸水部が結晶性高分子の繊維からなることを特徴とする前記6記載の検出方法。

【0015】8. 前記検出媒体の吸水部が疎水性繊維からなることを特徴とする前記7記載の検出方法。

【0016】9. 前記検出媒体の吸水部が試料拭紙前に水性媒体で湿潤されていることを特徴とする前記6～8の何れか1項記載の測定方法。

【0017】10. 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アミノ酸と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアミノ酸検出キット。

【0018】11. 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、炭水化物と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とする炭水化物検出キット。

【0019】12. 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アルデヒドと接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアルデヒド検出キット。

【0020】13. 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、アルコールと接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とするアルコール検出キット。

【0021】14. 試料表面の対象部分からサンプルを移しとる検出媒体、脂質と接触して発色する試薬が組み合わされて収納されたことを特徴とする脂質検出キット。

【0022】15. 前記検出媒体が吸水部と支持体からなることを特徴とする前記10～14の何れか1項記載の検出キット。

【0023】16. 前記検出媒体の吸水部が結晶性高分子の繊維からなることを特徴とする前記15記載の検出キット。

【0024】17. 前記検出媒体の吸水部が疎水性繊維からなることを特徴とする前記16記載の検出キット。

【0025】18. 試料表面に付着している残留物をオキシダーゼを含む酵素発色反応によって検出する方法において、試料表面の対象部分を検出媒体の吸水部で拭拭して試料を採取し、該吸水部にオキシダーゼを含む発色試薬液を接触させて反応を行なわせ、検出媒体及び発色試薬液の発色の度合により前記試料の表面に付着していた残留物を検出することを特徴とする残留物の検出方法。

【0026】上記の本発明の構成のごとく本発明者らは鋭意検討を行なった結果、試料表面に固体及び/又は溶液として付着している残留物の検出方法において、試料表面の対象部分を検出媒体に移しとった後、これを検出

試薬と接触させ、その発色の度合いによって前記試料の表面に付着した残留物を検出することによって、簡便に残留物の検出方法及び残留物キットを開発した。

【0027】具体的には、設備などの対象部分を検出媒体で拭拭し、付着している成分を検出媒体に移し取る。次いで、この検出媒体と検出用試薬を接触させることによって反応させ、その残留物の有無や濃度を測定するのである。検出試薬を選択することによって、アミノ酸、炭水化物（でんぷん、糖など）、アルコール、アルデヒド、脂質（中性脂肪・脂肪酸）を検出することが可能であり、より広範囲の用途に利用することが可能である。

【0028】本発明の具体的な利用例をあげれば、食品の加工工場或いは、食品の製造工場などの設備の洗浄度検査の他、例えば検出媒体を用いて口腔内の唾液を採取し、これとエタノール検出試薬と反応させることによって、自動車運転者のアルコール摂取の有無をチェックすることにも利用できる。

【0029】以下に、本発明を詳細に述べる。

【0030】本発明は試料表面の対象部分から残留物を検出媒体に移し、予め調整された反応発色試薬溶液中に残留物が乾移した検出媒体を接触させた後、必要に応じ加温して、発色した濃度を、例えば残留物量に対応した発色濃度を示す色見本、検量線（残留物量-発色濃度）、分光光度計、カラーメーターで該試料に付着した残留物量を1〜60分間の短時間で定量できる残留物の検出方法である。

【0031】本発明に使用される試料とは表面に残留物が付着しているか調べたいものである。

【0032】検出媒体は、好ましくは吸水部と支持棒からなり、特に吸水部は繊維を寄せ集めた構造からなることが好ましく、綿棒状の形態にすることが好ましい。検出反応が主に検出媒体の吸水部で行なわれるため、白色である吸水部の繊維が染色され、目視による確認が極めて容易となる。この吸水部は結晶性高分子の繊維からなることが好ましい。

【0033】これによって、製品10tによるバラツキが少なく、精度の高い測定ができる。さらに、吸水部が疎水性繊維からなる検出媒体を用いることによって、非特異的な発色が防止され、より正確で高感度な検出が可能となるのである。

【0034】具体的には綿棒のように支持体先端部に繊維がからまれているものである。市販の綿棒も本発明の検出媒体として用いることもできるが好ましくは結晶性高分子の繊維又は疎水性繊維からなる吸水部分を持つものが望ましい。

【0035】また、本発明においては上記検出媒体の吸水部が試料拭拭前に水性媒体で湿潤されていることが好ましい。

【0036】結晶性高分子の繊維としては例えば、

・ナイロン系  $-(\text{NH}(\text{CH}_2)_x\text{NH}-\text{CO}(\text{CH}_2)_y\text{CO})-n$

・ポリエステル系  $-(\text{CO}-\text{O}-\text{多価アルコールと多塩基酸の重合体})$

・アクリル系  $-\text{アクリロニトリル}\text{CH}_2=\text{CHONのポリマー}$

・ポリビニルアルコール系  $-(\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})-n$

・ポリウレタン系  $-\text{NHCO}-\text{いわゆるウレタン結合を有するポリマー}$

・ポリ塩化ビニリデン系  $-(\text{CH}_2\text{CHCl})_n\text{塩化ビニリデンのラジカル重合体}$

・ポリ塩化ビニル系  $-(\text{CH}_2\text{CHCl})_n\text{塩化ビニルの重合体}$

・ポリフルオロエチレン系  $-(\text{CF}_2\text{CH}_2)_n$

・ポリプロピレン系  $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3)_n\text{プロピレンの重合体}$

・ポリエチレン系  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_n$

などが挙げられる。

【0037】このうち特に好ましいのは、疎水性繊維であり例えば高分子の繰り返し単位の中に親水性基（水酸基、アミノ基、カルボキシル基、アミド基）を含まない高分子からなる繊維をいう。例えば、ポリエステル繊維は高分子の繰り返し単位の中に親水性基（水酸基、アミノ基、カルボキシル基、アミド基）を含まず、分子の末端部のみ水酸基又はカルボキシル基を含むだけであり、親水性が極めて小さい。

【0038】具体的には、例えばポリエステル、ポリアクリル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリウレタン等があげられる。なかでもポリエステル、ポリエチレン、ポリプロピレンを用いた場合、非特異的な発色が少なく特に好ましい。

【0039】また、形状については、検出媒体吸水部に吸水保水性を持たせられればよい。例えば膜状のものは微細な孔を設ける、スリットを入れる等の加工で十分その機能は確保出来る。好ましくは材質が繊維状のものを寄せ集め、綿棒のような形状にすると好ましい。

【0040】前記試料表面の残留物を前記検出媒体に移しとる方法としては例えば、拭う、圧着させる、吸いとる方法等がある。拭う方法としては例えば綿棒等スワブを使う、メンブレンフィルター等を使う方法がある。圧着させる方法としては例えば吸着材料をつけたテープ、スタンプ、ストリップベース等で圧着させる、吸着材料をつけたローラで圧着させる方法がある。吸いとる方法としては例えば、吸水性の綿棒、フィルターで吸いとる、スポイト等で直接吸いとる方法がある。

【0041】吸いとる方法の場合、例えば試料表面に水又は界面活性剤水溶液を垂らして暫く時間を置いた後、該表面の残留物を吸いとることによって、より効率的にサンプリングすることができる。

【0042】前記水性媒体としては、例えば生生理食塩水、精製水（例えば蒸留水、脱イオン水等）、界面活性剤水溶液、水溶性有機溶媒（例えば、アセトン、エタノール、プロピルアルコール、メチルエチルケトン等）水

溶液（1～95%溶液）が挙げられる。アルコール検出の場合は、当然アルコールを含有してはならない。特に中性脂肪又は脂肪酸等の脂質を検出する場合は界面活性剤水溶液を用いるとサンプリングの幅度及び検出感度が向上するため好ましい。

【0043】前記界面活性剤水溶液中の界面活性剤としては例えば以下のものが具体的に挙げられる。

【0044】非イオン系活性剤

1. ソルビタン脂肪酸エステル
  2. グリセリン脂肪酸エステル
  3. デカグリセリン脂肪酸エステル
  4. ポリグリセリン脂肪酸エステル
  5. プロピレングリコール・ペンタエリスリトール脂肪酸エステル
  6. ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル
  7. ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル
  8. ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル
  9. ポリエチレングリコール脂肪酸エステル
  10. ポリオキシエチレンアルキルエーテル
  11. ポリオキシエチレンフィトステロール・フィス
  12. ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル
  13. ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル
  14. ポリオキシエチレンヒマシ油・硬化ヒマシ油
  15. ポリオキシエチレンラノリン・ラノリンアルコール・ミツロウ誘導体
  16. ポリオキシエチレンアルキルアミン・脂肪酸アミド
  17. ポリオキシエチレンアルキルフェニルホルムアル
  18. 単一鎖長ポリオキシエチレンアルキルエーテル
- 上記のアルキルとしては直鎖、分岐の炭素数1～18を表す。

【0045】また上記界面活性剤の市販品としては例えば以下のものが挙げられる。

【0046】非イオン界面活性剤：Triton X-100（和光純薬工業（株））、Tween-20（和光純薬工業（株））、Nonidet P-40（ペーリガー・マンハイム山之内（株））

本発明の残留物検出用キットは、例えば、検出媒体、反応発色用試薬、反応発色試薬調製容器、残留物を移しとった検出媒体と反応発色試薬溶液と反応させる容器（例えばキャップがついているガラス又はプラスチックチューブ）、反応発色試薬測定用プレート、色見本、試薬の表面の残留物を検出媒体に移させる為に、こする面積が一定になるような枠体が一式となっているものをいい、具体的には実施例で詳述する。

【0047】また上記反応発色試薬は当業界公知のものを使用でき、これらの試薬を適宜調合し、反応発色試薬

溶液として本発明の残留物の検出に使用できる。

【0048】本発明の検出媒体とは試料の表面の残留物を移しとれる吸水性部分を含む媒体であることが好ましく、吸水部は、微細構造物からなることが好ましく、該吸水部が支持体の先端に保持されているものが良い。図4に本発明の好ましい検出媒体の一例を示す。図4

(a)の14の吸水部は微細をより合わせたものであり、図4(b)の14の吸水部は多孔性樹脂（スポンジ状）であり、図4(c)の14の吸水部は布を用いたものである。16は支持棒である。

【0049】検出媒体の吸水部は測定対象物の表面から一定量の試料を採取し、検出試薬と試料を接触させて反応させ、かつ反応を促進する作用も持っている。

【0050】例えば、検出試薬としてオキシダーゼ酵素を用いる測定系の場合は、吸水部の微細集合体に試薬が染み込むことによって空気との接触が容易になり、酵素反応に必要な酸素が十分に供給されるという効果もある。

【0051】即ち、通常発色試薬は予め調製し適当なボトル或いは点眼瓶などの密閉容器に保存されている。その為、オキシダーゼの酵素反応に必要な酸素が十分でないことがあり、本発明の方法のように検出媒体の存在下で発色反応を行なわれることによって、空気中の酸素が効率的に取り込まれ、特にオキシダーゼ酵素を用いる測定系ではより短時間で高感度な測定が可能になるのである。更に、吸水部自身が染色されることによって目視による確認を容易にしている。特に検出反応によって生成する発色物質が吸水部の微細に吸着することによってより明確に発色を確認することが可能になるのである。

【0052】本発明の検出方法で測定できるものは、特に下記に示したものが挙げられる。炭水化物（例えばでんぷん等、糖類（例えばグルコース、スクロース、マルトース等））、アミノ酸（例えば、グリシン、アラニン、バリン、セリン、ロイシン、グルタミン酸、プロリン、ヒドロキシプロリン等）、脂質（例えば中性脂肪、脂肪酸（例えばカプロン酸、カプリル酸、ラウリン酸、パルミチン酸、ステアリン酸などの飽和脂肪酸及びミリスチン酸、オレイン酸、エルカ酸、リノール酸、リノレン酸など不飽和脂肪酸））、アルコールである。

【0053】アルデヒド検出方法

アルデヒドはシッフ試薬と反応させて生じる赤紫色の色素によって検出できる。シッフ試薬はそれぞれ自身市販されており、容易に入手できる。この試薬は、塩基性フクシン200mgを水120mlに溶解し、これに亜硫酸水素ナトリウム2gを水20mlに溶かした液を加えて200mlとし、活性炭0.03gを加え濾過したものである。シッフ試薬は褐色びんに保存するか、遮光条件下で保存することが望ましい。

【0054】アルデヒドの検出に用いる検出媒体の吸水部は非特異的な発色を防ぐため、親水性繊維からなるこ

とが特に望ましい。中でもポリエステル繊維、ポリエチレン繊維などが好ましく用いられる。又、吸水部と接触している支持体も疎水性の高分子からなることが望まれる。

#### 【0055】アミノ酸検出方法

アミノ酸はニンヒドリン反応によって生成する紫色の色素によって検出できる。ニンヒドリンは0.2~2%の水溶液及び/又はアルコール溶液としてキットに含まれることが望ましい。例えば、70~95%エタノール溶液を染色試薬としてキットに組み込むことができる。ニンヒドリンを用いる方法は、検出媒体の吸水部に用いられる繊維が非特異的に発色することもなく、感度も優れている。

#### 【0056】炭水化物（でんぷん・糖類）検出方法

でんぷんは例えば、ヨウ素-でんぷん反応によって検出することができる。糖類の測定方法としては、下記の公知の方法が利用できる。還元糖Benedict反応試験管内にBenedict試液を数滴加え、これに試料が付着した検出媒体を浸し、1~2分間強く加熱したのち、冷却する。存在する還元糖の還元力に応じて、赤、黄又は緑色に呈色する。Benedict試液は下記の手順で調製できる。

【0057】精製した結晶硫酸銅17.3gを加熱した蒸留水に溶解して全量を60mlとし、これをA液とする。クエン酸ナトリウム17.3gと無水炭酸ナトリウム10.0gを加熱した蒸留水に溶かし、全量を60mlとする。冷却後、蒸留水で希釈し、850mlとし、これにA液を加えて混合し、Benedict試液とする。

【0058】3,6ジニトロフタル酸による呈色試験  
試験管に0.3% 3,6-ジニトロフタル酸（ピリジ\*30

ADH



DIA



ここで、NAD(P)<sup>+</sup>は酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸、NAD(P)Hは還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸、DIAはジアホラーゼである。

【0063】本発明において、アルコールデヒドロゲナーゼの活性によって生成した還元型糖酵素は本発明に係る還元型糖酵素検出組成物によって定量的に表示される。

【0064】即ち還元型糖酵素のNADH或いはNADPHの定量は、適当な物質を用いるNADH或いはNADPHを発色色素原体、蛍光前駆体、発光体等と作用させ、比色、蛍光、発光等で定置することができる。ここでの適当な物質とはNADH或いはNADPHを酸化し、発色色素原体、蛍光前駆体、発光体等を還元する反応を触媒する物質をさし、具体的には、5-メチルフェナジニウムメチルサルフェート、(1-メトキシ)-5

\*ン塩)の水溶液数滴とアルカリ液(K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 12.5gとNa<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>・5H<sub>2</sub>O 25gを水に溶かし全量を500mlとしたもの。)数滴を加え、この試験管内に試料が付着した検出媒体を入れて接触させ、約10分間加熱(およそ90~100℃)して反応させる。還元糖が存在すれば目視により呈色を確認できる。或いは、冷却後水で希釈して、450nmの吸光度を測定することによってより正確に定置することもできる。

#### 【0059】4-メトキシベンズアミジン又はベンズアミジンを用いる還元糖の蛍光測定方法

還元糖はアルカリ性で4-メトキシベンズアミジン又はベンズアミジンと加熱すると直ちに強い蛍光を発する。この反応により、ウロン酸、アミノ酸、及びシアル酸も蛍光を発する。測定は、試験管に30mM 4-メトキシベンズアミジン又はベンズアミジン水溶液1滴と1M KOH水溶液1滴を加え、100℃で2~3分加熱し、直ちに氷水にて冷却して反応を停止する。

【0060】4-メトキシベンズアミジンを用いた場合は励起波長365nm発光波長470nmで蛍光強度を測定できる。ベンズアミジンを用いたときには励起波長310nm発光波長470nmで蛍光強度を測定できる。

#### 【0061】アルコール検出方法

本発明のアルコール検出方法の一例として、エタノールを測定する場合を説明する。エタノールを測定する方法としては、アルコールデヒドロゲナーゼ又はアルコールオキシダーゼなどの酵素を用いる方法が好ましい。アルコールデヒドロゲナーゼ(以下ADHと略す)を用いる方法の反応は下記の通りである。

#### 【0062】

5-メチルフェナジニウムメチルサルフェート(以下、MeO-PMSという)、メルドラブルー(即ち、9-ジメチルアミノベンゾ-α-フェナジキソニウムクロライド)等の化合物や、ジヒドロリボアミドレダクターゼ(NAD<sup>+</sup>) (別名ジアホラーゼ)、NADHデヒドロゲナーゼ(キノン)等の酵素を用いることができる。

【0065】この場合、好ましい発色色素原体の例として3-(p-ヨードフェニル)-2-(p-ニトロフェニル)-5-フェニル-2-水素テトラゾリウムクロライド(Neo-TB)、3,3'-ジメトキシ-4,4'-ビフェニレン)-ビス(2-(p-ニトロフェニル)-5-フェニル-2-水素テトラゾリウムクロライド(Nitoro-TB)、3,3'-(3,3'-ジメトキシ-4,4'-ビフェニレン)-ビス(2,5-ジフェニル-2-水素テトラゾリウムクロライド)



(TB)、3, 3' - (3, 3' - ジメトキシ - 4, 4' - ビフェニレン) - ビス [2, 5 - ビス (p - ニトロフェニル) - 2 水素テトラゾリウムクロライド] (TNTB) 等が挙げられる。

【0066】更に特異的結合反応、酵素反応、発色反応等に適用した pH にするために緩衝剤を含有させることが好ましい。具体的には体液試料適用時に pH = 6.0 ~ 10.0 の範囲に緩衝剤を、十分な量含有する事が好ましい。用いることができる緩衝剤としては日本化学会編「化学便覧基礎編」(東京、丸善(株) 1966) p1312 ~ 1320, N. E. GOOD 等; バイオケミストリ (Biochemistry) vol. 5, p467 (1966), 今村、斎藤; 化学の領域, vol. 30 (2), p79 (1976), W. J. フェリグソン (Ferguson) 等; Anal. Biochem., vol. 104, p300 (1980) 等の文献に記載されているものを挙げることができる。具体的な例としては、くえん酸塩、硼酸塩、燐酸塩、炭酸塩、トリス、バルビツール、グリシン、グッド緩衝剤等があげられる。これらの緩衝剤は必要に応じて発色反応試薬に含有させてもよい。

【0067】更に本発明では試薬の保存性、定量再現性の向上のため保固剤として多価アルコール、非還元糖の少なくとも1つを含有させられる。これら保固剤の添加量は試薬重量量に対し 0.1% ~ 10wt% が好ましく、更に好ましくは 1 ~ 15wt% である。

10

\*

\* 【0068】多価アルコールとしては糖アルコール、非還元糖としては還元基が消尽された多糖類が好ましい。

【0069】次にこれらの具体例を挙げる。

【0070】(糖アルコール) エリトリール、トレイトール、アラビニール、リビール、キシリール、ソルビール、ガラクトール、マンニール、アリール、ボレミール、プレセイトール、myo-イノシール、chiro-イノシール、scyllo-イノシール、ケルシール、ヒブニール、シクロヘキサントール、コンズリール。

【0071】(多糖類) トレハロース、蔗糖、イソトレハロース、ラフィノース、ゲンチアノース、メソチトース、ブランテオース、スタキオース、ベルバスコース、リクノース、α-デキストリン、β-デキストリン、γ-デキストリン。

【0072】これら発色反応試薬保固剤、緩衝剤は、水或いは有機溶媒に溶解し検出試薬として用いられる。

【0073】更にアルコールの酵素分析法には、アルコールオキシダーゼを用いる方法がある。アルコールオキシダーゼ(以下AODと略す)を用いる検出方法の反応は下記のとおりである。生成したH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を適当な比色反応系に導いて検出する。例えば、ペルオキシダーゼを触媒として、検出可能な色素を形成させて検出する方法が好ましく用いられる。

【0074】

#### AOD



発色反応試薬としては、トリンダー試薬の変法として知られる4-アミノアンチピリン又はその塩、1, 7-ジヒドロキシナフタレン; 3-N-スルホプロピルアニリン誘導体、例えばN-エチル-N-スルホプロピルアニリン、N-エチル-N-スルホプロピル-3, 5-ジメチロキシアニリンスルホン酸及びその塩、N-スルホプロピルアニリン、N-エチル-N-スルホプロピル-3, 5-ジメチルアニリン、N-エチル-N-スルホプロピル-m-トルイジン; N-2-ヒドロキシ-3-スルホプロピルアニリン誘導体、例えばN-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-アニシジン、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)アニリン、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメチロキシアニリンスルホン酸及びその塩、N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメチロキシアニリン、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3, 5-ジメチルアニリン、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン等との組合せ等が挙げられる。

【0075】更に化学発光する化合物、例えばノレミン

30

40

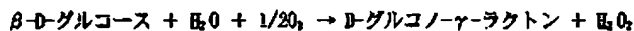
ール(5-アミノ-2, 3-ジヒドロ-1, 4-フタラジンジオン)、イソルミノール(6-アミノ-2, 3-ジヒドロ-1, 4-フタラジンジオン)、ABEI-H(N-(4-アミノブチル)-N-エチルイソルミノールヘミサクシンアミド、AHEI(N-(6-アミノヘキシル)-N-エチノレイソルミノール)ABEI(N-(4-アミノブチル)-N-エチルイソルミノール)等が挙げられる。

【0076】更に特開昭57-94653号、同57-94654号、同57-94655号、同57-94656号に記載された芳香族第一級アミン化合物とカップリング反応によって発色する拡散性フェノール化合物、或いはピラズロン化合物、その他の発色試薬が用いられる。

【0077】前記アルコールオキシダーゼに代えて、グルコースオキシダーゼ(以下GODと称す)を用いればグルコースを検出することが可能である。即ち、生成したH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を例えば、ペルオキシダーゼを触媒として、検出可能な色素を形成させて検出する方法が好ましく用いられる。

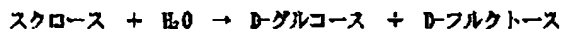
【0078】グルコース

## GOD

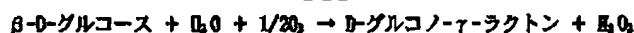


また、これに $\alpha$ -グルコシダーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ、 $\beta$ -フルクトシダーゼなどの二糖ないしオリゴ糖を加水分解する酵素を併用することによって、二糖ないしオリゴ糖を構成するグルコースとして、それらの存在を\*

\*一括して検出することができる。例えば、下記の酵素を併用すればマルトース/スクロース/グルコース何れかの存在を一度に検出することが可能である。  
[0079]

 $\alpha$ -グルコシダーゼ $\beta$ -フルクトシダーゼ

## GOD



## 中性脂肪

中性脂肪はグリセロールと脂肪酸のエステルである。検出方法は、リポプロテインリパーゼ（以下LPLと称す）及びグリセロールデヒドロゲナーゼ（以下GDHと称す）によって生成するNADHを例えば、シアホラーゼを触媒としてテトラゾリウム塩をホルマザン色素に変換して検出することが好ましい。検出試薬は適当な緩衝液に溶解していることが望ましく、10mM~1M、pH7~10.5の範囲で例えば、リン酸緩衝液、炭酸緩衝液、トリス・トリス塩緩衝液、その他グッドバッファが適宜選択され用いられる。酸化型ニコチン酸アミドアデニンジヌクレオチド（NAD<sup>+</sup>）は好ましくは1~100mMの濃度で含有させることができる。LPL、GDH、DIAなどの酵素は好ましくは0.1~5\*

\*0Unit/mlを含有させることができる。

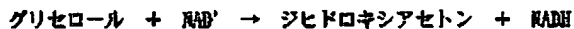
[0080] テトラゾリウム塩としては、2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazoliumchloride (INT), 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide (MTT), 3,3'-[3,3'-Dime-thoxy-(1,1'-biphenyl)-4,4'-diyl]-bis[2-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazoliumchloride] (Nitro-TB) などが好ましく用いられる。

[0081]

## LPL



## GDH

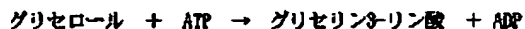


## DIA



又は、LPLによって生成するグリセロールをATPの存在下にグリセロキナーゼ（GK）でグリセリン3-リン酸（G-3-P）とし、これをグリセリン3-リン酸酸化酵素（GPO）によって酸化し、生成したH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を★

## GK



## GPO



## 脂肪酸

脂肪酸としては例えば、オレイン酸、パルミチン酸、ステアリン酸などであり、単体として或いは混合物の形で存在するものが測定対象である。これを下記に示すようにアシルCoAシンセターゼ（ACS）、アシルCoAオキシダーゼ（ACO）といった酵素を作用させることによって生成した過酸化水素を適当な比色反応系に導いて検出する。比色反応系としてベルオキシダーゼを用い

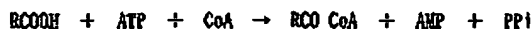
★例えば、ベルオキシダーゼを触媒として、検出可能な色素を形成させて検出する方法が好ましく用いられる。

[0082]

た場合、CoAのSH基が次の反応で色素形成を阻害することから、N-エチルマレイミドにより、未反応CoAをブロックする必要がある。これらの測定方法については、北村元仕（編）：逆脂質代謝、実験臨床化学p530-544、医歯薬出版、1982に記載されている。

[0083]

## ACS



## ACO



中性脂肪或いは脂肪酸などのような脂質を測定する場合、検出媒体の吸水部を予め界面活性剤を含有する水溶液で湿らせておくこととサンプリングの精度及び検出感度があがる。このような界面活性剤としては非イオン性界面活性剤が好ましく用いられる。具体的には、Tween 20やトリトンX-100などのポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル類が好ましく用いられる。使用する界面活性剤の濃度は0.05～5%が好ましい。

【0084】これらの試薬は、好ましくは開口部を有する可撓性部材からなる1つ或いは複数の容器に収納されており、使用時に容器の一部を押圧して開口部から液滴を形成し、これを試料を採取済みの検出媒体の吸水部に点着して反応させる。或いは、別の容器（試験管など）に必要量を分注した試薬に検出媒体の吸水部を接触させて反応させる。必要に応じドライヤー又はヒーターなどで加熱させて反応を促進させるとよい。酵素を用いている反応を利用している場合は、室温（25℃）若しくは37℃に保温して行なわれる。必要があれば試薬ブランクをとり、発色度の差を確認することもできる。

## 【0085】標準型キット

本発明の一例を示す残留物検出用キット構成（図1）は、次の構成である。すなわち、図1（a）中の5の試薬B（点眼ビン形状の容器に充填）、検出媒体1（形状：綿棒状のもの、柄はプラスチック製φ2mm）、キャップ2がついた3のガラスチューブφ10×70mmから構成されている。保存性の問題で2個以上の試薬を測定直前に混合して使用する場合は、図1の3のガラスチューブに4の試薬Aとして、5の容器に試薬B（好ましくは点眼ビン形状の容器に充填）として分割して入れておくことができる。さらに第三の試薬Cが必要であれば、5の容器をもう1つ追加してキットに入れることができる。

【0086】また、測定対象物の表面が乾燥している場合は、検出媒体吸水部14を水性媒体で湿らせた方が、効率的に試料を採取できる。6はそのための水性媒体で、必要に応じ蒸留水、生理食塩水、界面活性剤水溶液、緩衝液、含水アルコールなどが用いられる。その他に、必要に応じ、反応促進・反応速度を一定に保つために恒温槽（ブロックヒーター等）、或いは単純に加熱して反応を促進するためのドライヤー、試験管立てなどを用意する。

【0087】精密に測定する場合は、検量線をたて反応液中の生成色素を分光光度計によって測定する。或いは、カラーメーター（図1（b））、標準カラスケール（図1（c））を用いて、目視により判定することができる。図1（b）、図1（c）において、1aは標準

カラスケール、1bはライト、1cは比色窓、1dは標準カラスケールホルダー、1eは試験管ホルダー、1fは物質濃度（レベル）、1gは発色の度合を示す色見本である。キット操作方法測定の一例をあげれば、測定の際にガラスチューブの試薬Aに、試薬Bを数滴滴下して混合し発色試薬を調製する。

【0088】次いで、測定対象物の表面の一定面積を検出媒体1でふき取る。このとき、試料表面が乾燥している場合は、検出媒体1の吸水部を適当な水性媒体（蒸留水、界面活性剤水溶液、生理食塩水、含水アルコール、など）で湿らせてふき取ると効率的である。ふき取った検出媒体1を発色試薬内に浸漬して反応させる。

【0089】反応中は検出媒体1は反応液内に浸漬し続けることが望まれる。特に、検出試薬にオキシダーゼを使用している場合は、これによって空気中の酸素が効率的に供給され反応が促進される。必要に応じ、恒温槽で加温し反応を促進させる。残留物による発色を分光光度計で測定するか、或いは目視により確認する。このとき必要に応じて標準カラスケールを用意しておくことと半定量が可能である。

## 【0090】標準改良型キット

本発明の他の例を図2に示す。即ち、適当な透明チューブ9に水性媒体10が100～1000μl程度入っており、キャップ7の下段には8、12の試薬A、Bを封入した可撓性ケース11が装着してある。キャップ7の底には、検出媒体13が固定されている。キャップ7を強く握ることにより可撓性ケース11が潰れ、中の試薬A、Bが透明チューブ9内へ落ち、検出媒体13と接触する仕組みとなっている。その他に、必要に応じ、恒温槽・ブロックヒーター等、分光光度計、カラーメーター、標準カラスケール、試験管立てなどを用意する。

## 【0091】キット操作方法

図2においてキャップ7を外し、検出媒体13の先端に対し、上記標準型キット操作法に示した要領で測定対象物表面から試料をサンプリングする。検出媒体13を透明チューブへ戻し、キャップ7を閉める。8、12の試薬A、Bの入った可撓性ケース11を潰して、該試薬A、Bを透明チューブ内へ落す。該透明チューブを維持した後、必要に応じ該透明チューブを加温或いは一定の温度に保ち、反応を進行させる。一定時間後、目視、或いは分光光度計にて発色程度を確認する。目視により確認する場合は、予め容易していた標準カラスケールと比較することによって、簡便に残留物の検出（半定量）が可能となる。発色試薬が試薬A、Bの混合によって調製される場合を例示しているが、発色試薬が単一の溶液として供給される場合は試薬A、Bのかわりに1種の発

色試薬液を用いればよい。図2の場合、14が吸水部であり、検出部である。

#### 【0092】簡易型キット

本発明の他の例を図3に示す。この例では、全ての発色試薬を容器（点眼ビン形状の容器が好ましい）に分注保管してある。標準型キットの操作方法と同じ要領で測定対象物の表面の一定面積を検出媒体1でふき取る。この検出媒体の吸水部（試料採取部）に発色試薬を容器から直接数滴ずつ添加して、吸水部上で発色反応を行なわせる。採取した残留物量に依り試料採取部で発色反応が進行するので、これを目視で判定することができる。必要に応じて標準カラースケールで発色の程度を比較することにより、半定量が可能である。試薬A、Bを予め混合して使用したい場合は、容器17で両液を混合したものを用意し、ここから試料採取部に試薬を添加すればよい。

【0093】キットのタイプに係わらず、分光光度計により測定する場合は発色した反応試薬液を測定することになる。一方、目視による確認を行なう場合は、発色した反応試薬液の発色によっても確認することは可能であるが、検出媒体の吸水部がより明瞭に染色されるため、この部分で判定することによって高感度な判定が可能となる。

#### 【0094】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明の態様はこれに限定されない。以下に本発明の残留物検出キットの形態及び測定手順を示す。キットの操作時において、何れもサンプリング時には指、手などが試薬、サンプリングの媒体に、直接触れないように十分注意する。

#### 【0095】実施例1 ブドウ糖の検出

標準型キットを用いて、ブドウ糖の検出をおこなった。下記組成のGOD-POD発色試薬A及びBを調製し、GOD-POD発色試薬Aはガラスチューブ各1mlずつ、GOD-POD発色試薬Bは点眼ビンに充填した。

#### 【0096】GOD-POD発色試薬A

0.1Mリン酸緩衝液 pH6.9

0.5mM 4-アミノアンチピリン

20mMフェノール

#### GOD-POD発色試薬B

0.1Mリン酸緩衝液 pH6.9

500U/ml グルコースオキシダーゼ；GOD（ベーリンガーマンハイム製）

300U/ml ペルオキシダーゼ；POD（ベーリンガ\*

材質	蒸留水のみ	ブドウ糖水溶液
a.	-	+++
b.	-	+++
c.	-	++

#### 実施例3 アミノ酸の検出

材質の吸水部からなる検出媒体を用いて、試料に付着したアミノ酸の検出を行なった。検出には下記ニンヒドリ

\*ーマンハイム製）

シャーレに0.1%ブドウ糖を含む水溶液を0.1mlまき、乾燥させて測定試料とした。

【0097】測定：GOD-POD発色試薬Aはガラスチューブ各1mlに点眼ビンからGOD-POD発色試薬Bを1滴滴下し、軽く振盪して混合する。検出媒体（綿綿）に、蒸留水2～3滴（100μl程度）を含ませ、前述のシャーレをふきとり、これを検出試薬に浸漬し、37℃で10分間反応させた。その結果、ブドウ糖の存在を示す発色が確認された。同様に調製した検出試薬に直接0.1%ブドウ糖を含む水溶液を0.1mlを入れて反応させたものと比較して、本発明の方法で反応させたものはより短時間で発色反応が進行することが確認された。又、分光光度計を用いて発色液の吸光度を測定することによって、予め作成していた検量線から検出媒体で採取したブドウ糖の量を知ることができた。

#### 【0098】実施例2 ブドウ糖の検出

検出媒体の吸水部の材質として下記のものを用いてブドウ糖の検出を行なった。検出試薬として点眼ビンに入れておいた下記のGOD-POD発色試薬Cを用いた。

【0099】1. 検出媒体として吸水部の材質：a. ポリエステル b. ポリエチレン c. ポリウレタンを用いた。

#### 【0100】GOD-POD発色試薬C

0.1Mリン酸緩衝液 pH6.5

0.5mM 4-アミノアンチピリン

15mMフェノール

5U/ml グルコースオキシダーゼ；GOD（ベーリンガーマンハイム製）

30 3U/ml ペルオキシダーゼ；POD（ベーリンガーマンハイム製）

#### 2. 試料のサンプリング

10μlの1%ブドウ糖水溶液をシャーレ底部に点着し、一旦乾燥させた。これを予め蒸留水で湿らせた各検出媒体吸水部にてふき取り、各々GOD-POD発色試薬Cを数滴点着し、反応させた。30分後、目視によって発色濃度別に5段階（発色なし、薄い+、濃い++、+++）で評価した。

【0101】3. 結果 何れの場合もブドウ糖の存在によって、発色し検出できた。特に吸水部の材質がポリエステル又はポリエチレン繊維の場合に、強く発色し感度が高いことが確認された。

#### 【0102】

ン試薬を用いた。

【0103】ニンヒドリ試液の調製：蒸留水50mlにニンヒドリ2gを溶解した液に80mgのSnCl

を加え、沈殿を濾過して除き、1昼夜以上暗所に放置後、蒸留水を加えて100mlとした。この溶液1mlに水2mlを加え、さらにイソプロパノール18mlを加えて混合した。

【0104】1. 検出媒体 吸水部の材質: a. ポリエステル b. ポリウレタン c. 天然綿糸

2. 試料のサンプリング: シャーレ底部に点着した10μlのグリシン水溶液(10mg/ml)を各検出媒体吸水部にて吸い取り、各々ニヒドリ試液を数滴点着\*

#### 再現性の比較

材質	発色濃度 (n=5)				
a.	+++	+++	+++	+++	+++
b.	++	++	++	++	++
c.	+++	++	+++	++	++

実施例4 アルデヒドの検出実施例2と同様の手順で、異なる材質の吸水部からなる検出媒体を用いて、試料に付着したアルデヒドの検出を行なった。検出にはシッフ試薬を用いた。シッフ試薬の塩基調整ブクシン200mgを水120mlに溶解し、これに亜硫酸水素ナトリウム2gを水20mlに溶かした液を加えて200mlとする。活性炭0.03gを加え濾過し、使用時まで暗所に保存した。

【0107】1. 検出媒体 吸水部の材質: a. ポリエステル b. ポリエチレン c. 天然綿糸

2. 試料のサンプリング: シャーレ底部に点着した10μlの0.1%ホルムアルデヒド水溶液を各検出媒体吸

材質	蒸留水	0.1%ホルムアルデヒド水溶液
a.	-	++
b.	-	++
c.	+++	+++

実施例5 アルコールの検出

実施例3と同様の手順で、異なる材質の吸水部からなる検出媒体を用いて、試料に付着したエタノールの検出を行なった。検出には下記組成のAOD-POD発色試薬を調製し用いた。

【0110】AOD-POD発色試薬

50mMリン酸緩衝液pH7.5

0.05% TritonX-100

2mM EDTA-3Na

0.5mM 4-アミノアンチピリン

2.0mM Sodium-N-ethyl-N-(3-sulfopropyl)-m-anisidine

5U/mlペルオキシダーゼ(ペーリンガー・マンハイム製)

10U/mlアルコールオキシダーゼ(東洋紡製) ★

#### 再現性の比較

材質	発色濃度 (n=5)				
a.	+++	+++	+++	+++	+++
b.	++	++	++	++	+++
c.	++	+++	++	+++	++

\*し、これをドライヤーにて加熱させて反応させた。目視によって発色濃度別に5段階(発色なし、薄い+〜濃い+++++)で評価した。

【0105】3. 結果: すべての例で吸水部が紫色に発色し、グリシンの存在が確認できた。n=5の測定結果を以下に示した。結晶性高分子繊維からなる吸水部を持つ検出媒体(a, b)は天然綿糸と比べると明らかに発色のばらつきは少なかった。

【0106】

\*吸水部にて吸い取り、各々シッフ試薬を数滴点着し、反応させた。30分後、目視によって発色濃度別に5段階(発色なし、薄い+〜濃い+++++)で評価した。

又、0.1%ホルムアルデヒド水溶液のかわりに蒸留水を用いて同様に測定しバックグラウンドを比較した。

【0108】3. 結果 吸水部がポリエステル、ポリエチレン等の結晶性高分子繊維からなる吸水部を有する検出媒体を用いた場合、アルデヒドを含有していない蒸留水ではまったく発色しなかったのに対し、吸水部が天然綿糸などからなる場合は、蒸留水でも発色してしまうことが判明した。

【0109】

★1. 検出媒体 吸水部の材質: a. ポリエステル繊維

b. ポリウレタンフォーム c. 天然綿糸

試料のサンプリング: 10μlの0.1%エタノール水溶液をシャーレ底部に点着し、これを各検出媒体吸水部にて吸い取り、各々AOD-POD発色試薬を数滴点着し、室温で反応させた。30分後、目視によって発色濃度別に5段階(発色なし、薄い+〜濃い+++++)で評価した。

【0111】2. 結果 いずれの場合もエタノールの存在によって、発色し検出可能であることが確認された。n=5の測定結果を以下に示した。このように疎水性繊維からなる吸水部を持つ検出媒体(a, b)は発色のばらつきが少なかった。

【0112】

## 実施例6 脂肪酸の検出

実施例1と同様の手順で、試料に付着した脂肪酸の検出を行なった。検出媒体は天然綿糸の吸水部を有するもの（綿粉）を用いた。検出には下記脂肪酸発色試薬1～3を用いた。

## 【0113】脂肪酸発色試薬1

5U アシルCoAシンセターゼ（東洋紡製）  
4U ミオキナーゼ（ベーリンガー・マンハイム製）  
10mg ATP・2Na  
3mg CoA  
5mg  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$   
19mg KCl  
100mg p-トルエンスルホン酸ナトリウム  
3mg Triton X-100  
これを0.1M Tris-HCl緩衝液（pH7.85）5mlに溶解した。

## 【0114】脂肪酸発色試薬2（反応停止液）

N-エチルマレイミド50mgを0.01N HCl5mlに溶解した。

## 【0115】脂肪酸発色試薬3

3U アシルCoAオキシダーゼ（東洋紡製）  
5U ペルオキシダーゼ（ベーリンガー・マンハイム製）  
1. 5mg 4-アミノアンチピリン塩酸塩  
2. 5mg ジエチル-m-トルイジン  
600mg KCl  
これを20mM N, N-ビス（2-ヒドロキシメチル）-2-アミノエタンスルホン酸緩衝液（pH7.5）20mlに溶解した。

【0116】試料の検出：50μlの1000μEq/lのオレイン酸カリウムを含む水溶液をシャーレ底部に点着した。これを検出媒体吸水部にて吸い取り、予め試験管内に入れておいた脂肪酸発色試薬1（0.5ml）に滴けて、室温で30分間反応させた。次いで脂肪酸発色試薬2を数滴滴下して混合し、数分後、脂肪酸発色試

\* 薬3を2ml加えて発色させた。30分後、目視によって発色が確認され、脂肪酸が検出できることが確認された。

## 【0117】

【発明の効果】本発明による残留物の検出方法及び残留物検出キットは、バックグラウンドが低く、再現性の高い良好な効果を有する。

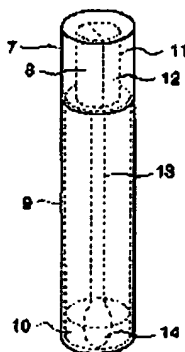
## 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一例を示す残留物検出キット（標準型）構成図である。  
【図2】本発明の他の例を示す残留物検出キット（改良型）構成図である。  
【図3】本発明の他の例を示す残留物検出キット（簡易型）構成図である。  
【図4】本発明の好ましい一例を示す検出媒体の構成図である。

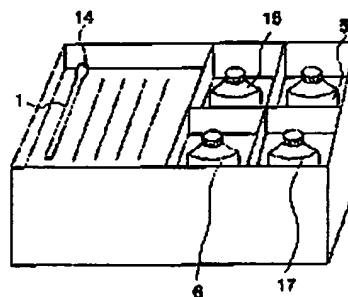
## 【符号の説明】

- 1 検出媒体
- 2 キャップ
- 3 ガラスチューブ
- 4 試薬A
- 5 試薬B
- 6 水性媒体
- 7 キャップ
- 8 試薬A
- 9 透明チューブ
- 10 水性媒体
- 11 可撓性ケース
- 12 試薬B
- 13 検出媒体
- 14 吸水部（試料採取部、検出部）
- 15 試薬A
- 17 試薬混合容器

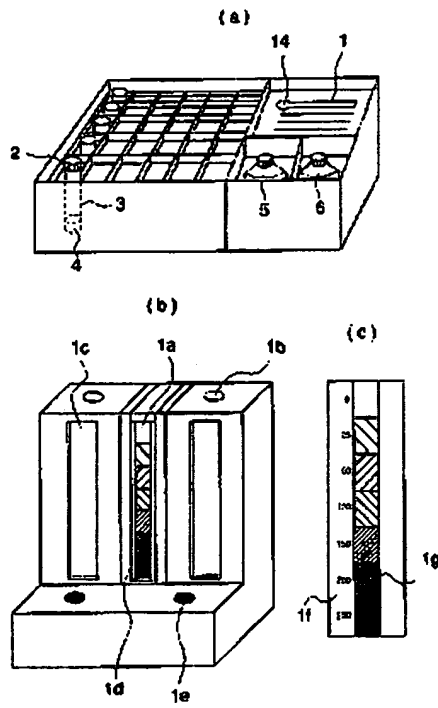
【図2】



【図3】



【図1】



【図4】

